

**Untersuchungen zur Regulation der
Cholesterinsynthese in der Rattenleber
unter medikamentösen und hormonellen Einflüssen**

Wolfgang Herzum

1974

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor Prof. Dr. N. Zöllner

Untersuchungen zur Regulation der Cholesterinsynthese in der
Rattenleber unter medikamentösen und hormonellen Einflüssen

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin verfaßt
und einer Hohen Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilian-
Universität zu München

vorgelegt von

Wolfgang Herzum

aus

München

1974

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. W. Kaiser

Mitberichterstatter: Prof. Dr. N. Zöllner

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 24.9.1974



Inhaltsverzeichnis

I. Abkürzungen

II. Einleitung

III. Methodik

- a) Versuchstiere
- b) Verabreichung und Dosierung der Medikamente
- c) Gewinnung der Leberschnitte
- d) Bestimmung der in vitro - Cholesterinsynthese

IV. Eigene Untersuchungen

- A. Wirkung von CPIB auf die in vitro - Cholesterinsynthese
 - A.a. Induzierung der Cholesterinsynthese durch Thyroxin
 - A.b. Wirkung auf die zyklische Variation
 - A.c. Einfluß von Catalase und AIT auf die Wirkung von CPIB
 - A.d. Einfluß von AIT auf die in vitro - Cholesterinsynthese
- B. Hormonelle Einflüsse auf die in vitro - Cholesterinsynthese
 - B.a. Glucagon
 - B.b. Hydrocortison
 - B.c. Dibutyryl-c-AMP
 - B.d. Theophyllin

V. Diskussion der Ergebnisse

VI. Zusammenfassung

VII. Literatur

VIII. Lebenslauf

I. Abkürzungen

AIT = 3-Amino-1,2,4-triazol

CPIB = -Äthyl-chlorphenoxy-isobutytrat

Handelsnamen z.B.: Clofibrat, Regelan, Atherolip,

Skleromex

HMG-CoA-Reduktase = β -Hydroxy- β -methyl-glutaryl-CoA-Reduktase

II. Einleitung

Die bis jetzt bekannten regulativen Einflüsse auf die Biosynthese von Cholesterin entfalten ihre Wirkung bei den höheren Tieren und beim Menschen in erster Linie über Änderungen in der Aktivität des Schlüsselenzymes der Synthese, der HMG-CoA-Reduktase. Da die Bildung von Mevalonsäure aus HMG-CoA durch die HMG-CoA-Reduktase praktisch irreversibel ist, ergibt sich für diese Schlüsselreaktion ein idealer Angriffspunkt für Regulationsmechanismen. Einflüsse auf diesen Schritt in der Cholesterinsynthese können indirekt erfaßt werden durch Bestimmung des Einbaues von ^{14}C -Acetat oder ^{14}C -Mevalonat in Cholesterin (s. Abb. 1). Hemmung der Cholesterinsynthese durch Beeinflussung der Aktivität der HMG-CoA-Reduktase muß zu einer Verminderung des ^{14}C -Acetateinbaues bei, gegenüber Kontrollen unveränderten ^{14}C -Mevalonateinbau führen.

Das zur Therapie der Hypercholesterinämie in der Klinik verwendete Medikament CPIB soll seine serumcholesterinsenkende Wirkung zunächst teilweise durch Hemmung der Cholesterinsynthese an einem frühen Schritt des Cholesterinstoffwechsels entfalten (1), der genaue Wirkort beziehungsweise der molekulare Wirkungsmechanismus der Hemmung ist jedoch nicht genau bekannt. Der Mechanismus, der zu eventuellen Änderungen

der Enzymaktivität über einen direkten allosterischen Hemmeffekt oder durch Änderungen in der Konzentration limitierender Enzymproteine zustandekommen.

In den hier durchgeführten Untersuchungen über den Einfluß von Thyroxin und die Veränderung der zyklischen Variation der Cholesterinsynthese nach CPIB-Gabe wurde versucht etwas zur Klärung dieser Frage beizutragen.

Da bei den früheren Untersuchungen in diesem Arbeitskreis durch CPIB-Gabe eine Vergrößerung der Leber mit einer auffallend tiefroten Verfärbung und einer Erhöhung der Catalaseaktivität auf etwa das doppelte beobachtet werden konnte, sollte in diesen Untersuchungen der Einfluß von Catalase - durch intraperitoneale Injektion gereinigter Rindercatalase und Kopplung der hepatischen Catalase mittels AIT- auf die *in vitro* - Cholesterinsynthese bestimmt werden.

In einer weiteren Versuchsreihe sollte untersucht werden, ob die Kontrolle der Cholesterinsynthese unter dem Einfluß bestimmter Hormone und damit indirekt der intrazellulären Konzentration von zyklischem AMP unterliegt.

III. Methodik

a) Versuchstiere

Bei sämtlichen Untersuchungen wurden männliche Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht von ca. 150 - 180 g verwendet. Die Ratten wurden mit kommerzieller Volldiät (Altromin R 15) und Leitungswasser ad libidum gefüttert.

b) Verabreichung der verschiedenen Substanzen

b.a. CPIB: Die Lösung von CPIB erfolgte in Aceton-Äther 1:1, bzw. Chloroform-Methanol 1:1. Die Dosierung betrug 0,3 % der Nahrung (200mg/Kg/die/Ratte) bei einer gleichmäßigen Verteilung über die Pellets.

b.b. DL/Thyroxin wurde in 0,5 ml physiologischer NaCl gelöst. Injektion i. p. von 1 g/g Körpergewicht/die über 10 Tage.

b.c. Hydrocortison: 1mg/100g Körpergewicht; gelöst in 0,5 ml physiologische NaCl i. p.

b.d. Glucagon: 0,2mg/100g Körpergewicht; gelöst in 0,5 ml physiologische NaCl i. p.

b.e. Theophyllin: 10mg/100g Körpergewicht; gelöst in 0,5 ml physiologische NaCl i. p.

b.f. Dibutyryl-c-AMP (N^6 , O^2 -dibutyrylcyclic-3', 5'-adenosine-monophosphate: 2mg/100g Körpergewicht; gelöst in 0,5 ml physiologische NaCl i. p.

- b.g. Catalase: gereinigte Rindercatalase 100-900 IU gelöst in 0,5 ml physiologische NaCl i. p.
- b.h. AIT (3-Amino-1,2,4-diazol) 1g/Kg Körpergewicht;
i. p./5 Stunden vor Inkubation.

c) Gewinnung der Leberschnitte

Die Tiere wurden durch einen Schlag auf den Kopf betäubt, anschließend durch Enthauptung entblutet. Die Leber wurde sofort vollständig entfernt und in Krebs-Ringerlösung pH 7,4, 4° C gebracht. Die ca. 0,3 - 0,8 mm dicken, 40 - 80 mg schweren Leberschnitte wurden mit Hilfe einer Rasierklinge hergestellt und nach Auswiegen in das Inkubationsmedium gebracht. Als Inkubationsgefäße dienten 20 ml Schliffgläser.

d) Bestimmung der in vitro - Cholesterinsynthese aus ^{14}C -Acetat bzw. ^{14}C -Mevalonat

Inkubationsmedium: 0,5 ml Krebs-Ringer-Bikarbonatpuffer p. H. 7,4.

Inkubation: Start der Einbaureaktion durch Zugabe von ^{14}C -Acetat oder ^{14}C -Mevalonat (0,6 mM; 0,05 ml; 1,5 C). Die Inkubationszeit betrug zwei Stunden bei 37° C. Während der Inkubation werden die Gläser mit etwa 50 Bewegungen/Minute geschüttelt.

Stoppen der Reaktion und Extraktion von Cholesterin:

Die Reaktion wurde durch Zugabe von 0,5 ml 16 M KOH und 1 mg Cholesterin in 0,5 ml Äthanol gestoppt. Der Inhalt danach unter Rückfluß 1,5 Stunden bei 120°C hydrolysiert; Extraktion mit 2 mal 2,5 ml Äthanol und 2 mal 5 ml Petroläther. Die Extrahierten Lipide wurden anschließend eingengt, in 0,3 ml Petroläther gelöst, auf eine aktivierte Dünnschichtplatte mit Kieselgel 6 (0,25 mm dick) aufgetragen und mit Hexan-Diäthyläther 40 : 70 entwickelt. Nach Sichtbarmachen der Fraktionen mit Joddampf wird die Cholesterinfraktion mit einem Spatel in Szintillationsgläschen gekratzt.

Messung der Radioaktivität:

Szintillationslösung: 5 g PPO, 0,3 g Dimethyl-PoPOP, 40 g Cabosil, Toluol ad 1000,0.

Messung mit Hilfe eines Packard Tri-Carb-Szintillationszählers, Modell 2009. Zählausbeute 60-65 %.

Berechnung der Cholesterinsynthese:

<u>Ipm (Cholesterin)</u>	=	Einbau von Acetat in
<u>Ipm Acetat</u>		Cholesterin (mol/mg/h)
mol Acetat		oder (mol/g/h)

Verwendete Substanzen:

Sodium-acetate- ^{14}C (spezifische Aktivität 40C/mM)

DL-mevalonolactone-1- ^{14}C (spezifische Aktivität 1,54 mC/mM)

von Radiochemical Centre Amersham. Alle sonst verwendeten Substanzen waren von höchstem käuflichen Reinheitsgrad.

IV. Eigene Untersuchungen

A) Wirkung von CPIB auf die in vitro - Cholesterinsynthese

Nach Zugabe von CPIB (0,3 % zur Diät bzw. 200 mg/Kg/die) vier Wochen lang zur normalen Kost wird in unseren Untersuchungen der Serumcholesterinspiegel der Ratten um etwa 30 - 35 % gesenkt. Dabei wird der Acetateinbau in das Cholesterin der Leberschnitte bereits nach sechs-tägiger Verabreichung von CPIB um 69 %, nach 11-tägiger Verabreichung um 88 % und nach 41-tägiger Verabreichung um 95 - 96 % gehemmt (7). Bei Bestimmung des Mevalonat-einbaues kommt es bereits am sechsten Tag der CPIB-Gabe zu einer Hemmung um etwa 50 - 60 %, bei weiterer CPIB-Gabe läßt sich aber keine weitere Hemmung erzielen.

Diese Untersuchungen weisen darauf hin, daß die Wirkung von CPIB auf die Cholesterinsynthese in erster Linie durch eine Beeinflussung des limitierenden Schritts in der Cholesterinsynthese, der Reaktion mit HMG-CoA-Reduktase, zu erklären wäre, wozu sekundäre Einflüsse in späteren Schritten der Sequenz der Cholesterinsynthese kommen müßten. Für diese Annahme sprechen auch Untersuchungen in denen die spezifische enzymatische Aktivität der HMG-CoA-Reduktase während CPIB-Gabe direkt gemessen wurde (7). Hier fällt nämlich die enzymatische Aktivität der HMG-CoA-Reduktase parallel zum Acetateinbau.

A.a. Induzierung der Cholesterinsynthese durch Thyroxin

Zur Frage der maximal erreichbaren Hemmung der Cholesterinsynthese während CPIB-Gabe wurde in den hier vorliegenden Untersuchungen die Cholesterinsynthese in der Rattenleber durch zehn-tägige intraperitoneale Injektion von DL-Thyroxin (1 mg/Kg/die) induziert. Da die Induzierung der Cholesterinsynthese mit Hilfe von Thyroxin durch Aktivierung der enzymatischen Aktivität der HMG-CoA-Reduktase erreicht wird (3) wäre eine Änderung des durch Thyroxin induzierten Acetateinbaues durch CPIB indirekt ein weiterer Hinweis auf die Lokalisation der CPIB-Wirkung. Durch intraperitoneale Injektion von DL-Thyroxin ließ sich der Acetateinbau in unseren Untersuchungen auf etwa das 20-fache steigern (Abb.2), der Mevalonateinbau blieb unverändert. Zehn-tägige Verabreichung von CPIB ergibt sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei den Tieren die mit Thyroxin behandelt wurden eine Reduktion des Acetateinbaues um etwa den gleichen Anteil, nämlich um etwa 90 %. Der Einbau von Mevalonat war in beiden Fällen um etwa 40 % vermindert.

A.b. Einfluß von CPIB auf die zyklische Variation der
Cholesterinsynthese

Der Einbau von Acetat in das Cholesterin der Rattenleber weist einen deutlichen Tag-Nachtrythmus auf. In unseren Untersuchungen zeigt sich ein Maximum des Acetateinbaues um 1³⁰Uhr, ein Minimum um 9Uhr (Abb. 3). Durch 10-tägige CPIB-Gabe läßt sich die Cholesterinsynthese auf Acetat annähernd parallel zur zyklischen Variation bei Kontrolltieren vermindern (Abb. 3). Auch die Tag-Nachtrythmik des Mevalonateinbaues verändert sich durch CPIB-Gabe nur parallel (Abb. 3).

A.c. Einfluß von Catalase auf den Acetateinbau und die
Wirkung von CPIB

Intraperitoneale Injektion von Rindercatalase erhöht den Acetateinbau in das Cholesterin der Leberschnitte (Abb. 4a). Durch Zugabe von Rindercatalase in das Inkubationsmedium läßt sich die in vitro - Cholesterinsynthese gleichfalls steigern (Abb. 4b). Injiziert man jedoch Catalase (900 IU/die 4 Tage lang; i.p.) in Ratten die 23 Tage lang mit CPIB vorbehandelt waren, so kann die CPIB-Hemmung auf den Acetateinbau dadurch nicht aufgehoben werden. (Abb. 4c).

A.d. Einfluß von AIT auf die in vitro - Cholesterinsynthese

Durch Injektion von AIT (1g/Kg Körpergewicht; 5 Stunden vor Versuchsbeginn intraperitoneal) wird der Acetateinbau in das Cholesterin der Rattenleberschnitte gehemmt. Bei mit CPIB 3 Tage lang vorbehandelten Tieren zeigt sich jedoch am Acetateinbau gegenüber den Kontrolltieren keine wesentliche Änderung (Abb. 5)

Der Mevalonateinbau wird durch AIT sowohl bei den Kontrolltieren wie bei den mit CPIB vorbehandelten Tieren erhöht (Abb. 5).

B. Hormonelle Einflüsse auf die in vitro - Cholesterinsynthese

Nach intraperitonealer Injektion von Glucagon, Hydrocortison, Dibutyryl-c-AMP und Theophyllin sechs Stunden vor Inkubationsbeginn der Rattenleberschnitte ergeben sich für Glucagon, Hydrocortison und Dibutyryl-c-AMP signifikante Erhöhungen im Acetateinbau (Abb. 6).

Der Mevalonateinbau wird durch diese Substanzen in geringerem Umfang erhöht (Abb. 6).

Ein hierzu entgegengesetztes Verhalten des Acetateinbaues ergeben jedoch die Untersuchungen bei denen die Inkubation bereits 3 Stunden nach intraperitonealer Injektion dieser Substanzen vorgenommen wurde (Abb. 7). Glucagon, Hydrocortison und Theophyllin hemmen hier den Acetateinbau erheblich, Dibutyryl-c-AMP erhöht nicht in solchem Ausmaß wie nach 6 Stunden.

Auch der Mevalonateinbau (Abb. 7) wird bei Glucagon und Theophyllininjektion gehemmt, bei Hydrocortison und Dibutyryl-c-AMP-Injektion jedoch nicht signifikant verändert.

V. Diskussion der Ergebnisse

Oliver (11) und Thorp et al (4) fiel 1963 die Serumcholesterinsenkende Wirkung von CPIB auf. Über seinen genauen Wirkungsmechanismus auf subzellulärer Ebene ist bis heute wenig bekannt. Es soll zumindest teilweise durch Beeinflussung der endogenen Cholesterinsynthese wirksam sein und zwar an einem relativ frühen Schritt der Cholesterinsynthese (1). Untersuchungen in unserem Arbeitskreis (7) müssen so interpretiert werden, daß CPIB eine direkte Wirkung auf den limitierenden Schritt in der Cholesterinsynthese, und zwar auf die enzymatische Aktivität der HMG-CoA-Reduktase, ausübt. Daneben kommt es bei CPIB-Gabe sekundär zu Verminderungen in Enzymaktivitäten in späteren Schritten der Sequenz, ausgewiesen durch eine Hemmung des Mevalonat-einbaues um ca. 50 - 60 %.

Als einen weiteren indirekten Hinweis auf den Wirkort von CPIB bei der Hemmung der hepatischen Cholesterinsynthese müssen die hier vorliegenden Ergebnisse über die durch CPIB-Gabe zustandegekommene Hemmung der Thyroxininduzierten Cholesterinsynthese gewertet werden. Unsere Untersuchungen (Abb. 2) bestätigen die Ergebnisse von Guder et al (3), wonach Thyroxin die Cholesterinsynthese durch Beeinflussung

an der HMG-CoA-Reduktase erhöht (Stimulation des Acetateinbaues bei fehlendem Effekt auf den Mevalonateinbau). Als indirekter Hinweis, daß die HMG-CoA-Reduktase als primärer Wirkort von CPIB anzusehen ist sind unsere Ergebnisse (Abb.2) zu werten. Durch CPIB-Gabe läßt sich sowohl bei den stoffwechselgesunden Ratten, als auch bei den mit Thyroxin behandelten Tieren, eine Senkung des Acetateinbaues um ca. 90% und des Mevalonateinbaues um ca. 50 - 60 %, also um den gleichen Prozentsatz erzielen.

Dies würde am ehesten so zu interpretieren sein, daß CPIB seinen Wirkort an der HMG-CoA-Reduktase hat. Dieser Effekt dürfte jedoch nicht im Sinne eines allosterischen Inhibitors zu denken sein.

Die bis jetzt vorliegenden Untersuchungen zur Regulation der Cholesterinsynthese an der HMG-CoA-Reduktase sprechen für eine bevorzugte Regulierung der Enzymaktivität über Beeinflussung im Bereich einer Enzymproteinsynthese der HMG-CoA-Reduktase.

Bei Vergleich der Tag- Nachtrhythmik des Acetat- und Mevalonateinbaues bei Kontrolltieren und Ratten die mit CPIB behandelt wurden (Abb. 3) ergibt sich bei

letzteren eine parallele Hemmung des gesamten Rhythmus sowohl für Acetat (80 - 90 %) als auch für Mevalonat (45 - 55 %). Zusammen mit den bisherigen Untersuchungen über die Beeinflussung der zyklischen Variation der Cholesterinsynthese erscheint dieses Ergebnis am ehesten dafür zu sprechen, daß CPIB die hepatische Cholesterinsynthese über eine Repression der de novo - Synthese des Enzymproteins der HMG-CoA-Reduktase beeinflusst.

Durch Gabe von 0,3 % CPIB zur normalen Kost fanden wir in der Rattenleber eine Erhöhung der Catalaseaktivität auf etwa das doppelte (3).

Nach intraperitonealer Injektion von gereinigter Rindercatalase ergibt sich in unseren Untersuchungen (Abb. 4a) eine Steigerung des Acetateinbaues, das gleiche Ergebnis erhält man bei Zugabe von Catalase zum Inkubationsmedium (Abb. 4b), die Hemmung durch CPIB wird nach intraperitonealer Injektion von Catalase dagegen nicht beeinflusst.

AIT inaktiviert die hepatische Catalase nach intraperitonealer Injektion innerhalb einer Stunde (zu 90% oder mehr) irreversibel (4). In unseren Unter-

suchungen (Abb. 5) wird durch irreversible Bindung von Catalase der Acetateinbau vermindert, die durch CPIB erreichbare Hemmung des Acetateinbaues wird geringfügig erhöht.

Diese Ergebnisse könnten für eine eventuell kontrollierende bzw. regulierende Funktion der Catalasekonzentration im Cholesterinstoffwechsel sprechen, es ist jedoch nicht daraus zu ersehen, ob der CPIB-Effekt auf die Cholesterinsynthese nur ein indirekter Catalaseeffekt ist.

Die Aktivität der HMG-CoA-Reduktase und damit die Cholesterinsynthese zeigt eine Tag- Nachtrhythmik. Dieser Rhythmus scheint endogen, eventuell durch bestimmte hormonelle Einflüsse reguliert zu werden. In unseren Untersuchungen wird der Acetateinbau 3 Stunden nach intraperitonealer Injektion von Glucagon, Theophyllin und Hydrocortison signifikant gehemmt, nach Injektion von Dibutyryl-c-AMP signifikant gesteigert, 6 Stunden nach intraperitonealer Injektion durch Glucagon, Hydrocortison und Dibutyryl-c-AMP (in geringem Ausmaß auch durch Theophyllin) signifikant gesteigert. Diese Ergebnisse würden am ehesten in der Weise zu interpre-

tieren sein, daß die Cholesterinsynthese in der Rattenleber durch das zyklische AMP kontrolliert würde. In letzter Zeit gibt es immer mehr Hinweise für eine entscheidende und kritische Rolle von zyklischem AMP als dem intrazellulären Mediator verschiedener Hormone. Die spezifische Speicherung der Serin-Dehydratase und Thyrosin-Amino-transferase, Enzyme die eine der HMG-CoA-Reduktase ähnliche zyklische Variation aufweisen, konnten von Jost et al (6) durch Injektion von zyklischem AMP, Dibutyryl-c-AMP und der Kombination zyklisches AMP und Theophyllin, gesteigert werden. Von Glucagon ist bekannt (9, 2), daß als eines seiner metabolischen Wirkungen auf die Leber die Erhöhung der intrazellulären Konzentration von zyklischem AMP anzusehen ist.

Unsere Ergebnisse, wonach die in vitro - Cholesterinsynthese 6 Stunden nach Injektion von Glucagon, Theophyllin, Hydrocortison und Dibutyryl-c-AMP signifikant gesteigert ist, sind ein indirekter Hinweis für eine Steigerung der HMG-CoA-Reduktaseaktivität durch Erhöhung der zyklischen AMP-Konzentration. Diese Enzyminduktion könnte am ehesten durch gesteigerte de novo-Enzymsynthese zustandekommen. Der paradoxe Effekt nach 3 Stunden, wonach mit Injektion von

Glucagon, Theophyllin und Hydrocortison eine Hemmung der *in vitro* - Synthese zustande kommt, könnte durch einen insulinotropen Effekt zumindest von Glucagon (10) erklärt werden. Huber et al (5) fanden nach Injektion von Glucagon zwar zuerst eine vorübergehende Erhöhung der HMG-CoA-Reduktaseaktivität, anschließend jedoch eine Senkung unter die Kontrollwerte.

Zusammenfassung

In der hier vorliegenden Arbeit wurde der Einfluß von CPIB, von Catalase und von verschiedenen hormonellen Faktoren auf die in vitro-Cholesterinsynthese in Rattenlebern untersucht. Dabei wurden Einflüsse auf den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Cholesterinsynthese, der Reaktion zwischen Acetat und Mevalonat, durch Bestimmung des in vitro-Einbaus von ^{14}C -Acetat und ^{14}C -Mevalonat in die Cholesterinfraktion von Rattenleberschnitten gemessen. Es ergaben sich dabei folgende Ergebnisse:

1. CPIB hemmt die Thyroxin-induzierte hepatische Cholesterinsynthese im gleichen Ausmaß wie bei Kontrolltieren, nämlich um etwa 90 %.
2. Die Tag-Nacht-Rhythmik der hepatischen Cholesterinsynthese wird durch CPIB nicht aufgehoben, die zyklische Variation ist nur insgesamt, parallel vermindert.
3. Intraperitoneale Injektion von gereinigter Rindercatalase erhöht den Acetateinbau in das Cholesterin der Rattenleber. Durch irreversible Bindung der hepatischen Catalase mit AIT wird dagegen die Cholesterinsynthese aus Acetat gehemmt.
4. 3 Stunden nach intraperitonealer Injektion von Glucagon, Hydrocortison und Theophyllin ist der Acetateinbau in die Cholesterinfraktion vermindert, 6 Stunden nach intraperitonealer Injektion von Glucagon, Hydrocortison und Dibutyryl-c-AMP jedoch signifikant erhöht.

LITERATURNACHWEIS

- 1.) Avoy, D.R., Swyryd, E.A., Gould, R.W.
J. Lipid. Res. 6, 369 (1965)
- 2.) Exton, J.H. und Park, C.R.
J. Biol. Chem. 243, 4189 (1968)
- 3.) Guder, W., Nolte, I. und Wieland, O.
Eur. J. Biochem. 4, 273 (1968)
- 4.) Heim, W.W., Appleman, D., Py. from H.T. Amer.
J. Physiol. 186, 19 (1956)
- 5.) Huber, I., Guder, W., Latzin, S., und Hamprecht, B.
Hoppe - Seyler's Z. Physiol. Chem. 354, 795 (1973)
- 6.) Jost, I.P., Hsie, A.W. und Richenberg, H.V.
Biochem. Biophys. Res. Communic. 34, 748 (1969)
- 7.) Kaiser, W. Untersuchungen zur Regulation der hepatischen
Cholesterinsynthese bei stoffwechselgesunden Personen,
Patienten mit essentieller Hypercholesterinämie und im
Tierexperiment unter der Einwirkung verschiedener
cholesterinsenkender Medikamente. Habilitationsschrift (1972)
- 8.) Oliver, M.F. I. Atheroscler. Res. 3, 427 (1963)
- 9.) Robinson, W.A., Butcher, R.W. und Sutherland, E.W.
Ann. Rev. Biochem. 37, 149 (1968)
- 10.) Samols, E., Tyler, I.M. und Marks, V. in Glucagon,
Mol. Physiol., Clin. and Therapeut. Implications
(Lefebure, P. J. und Unger, R. H., eds.)
Pergamon Press, Oxford 151 (1972)
- 11.) Thorp J.M. and Waring, W.S. Nature 194, 948 (1962)

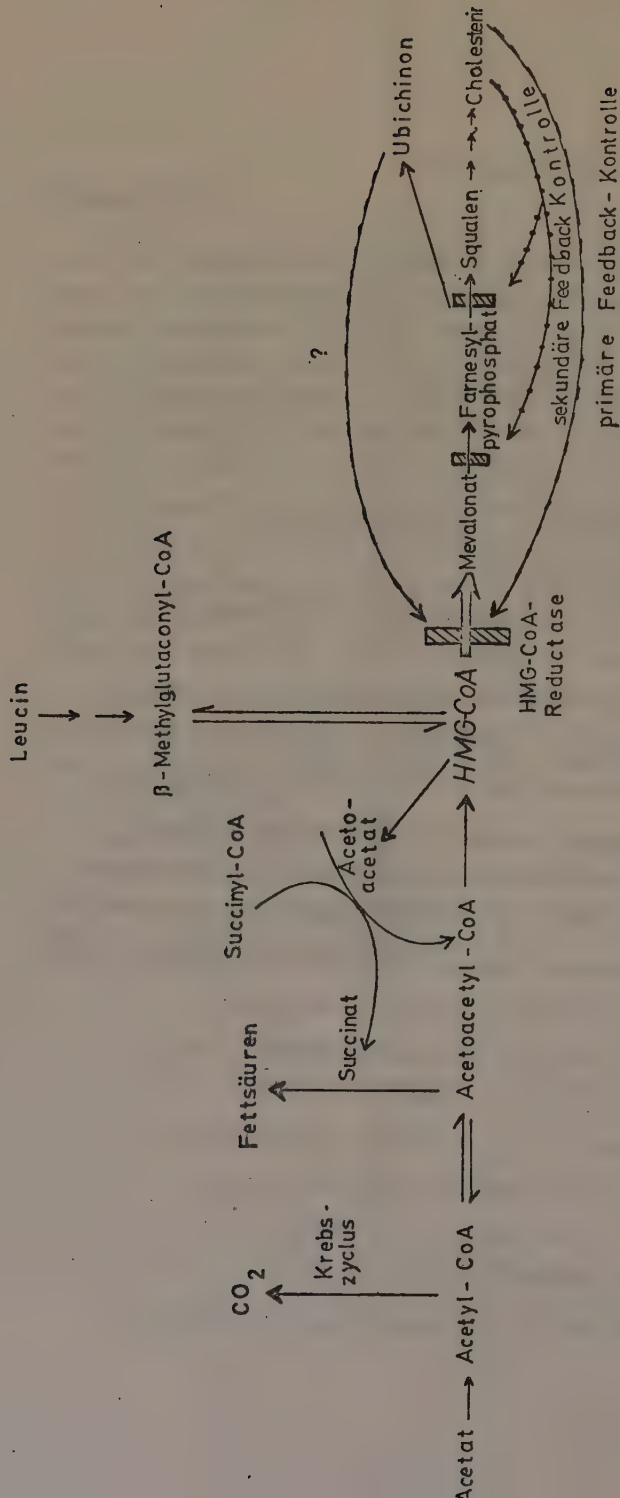


Abb. 1: Vereinfachtes Schema der Stoffwechselwege bei der Cholesterinsynthese und Feedback-Hemmung durch Cholesterin.

Cholesterinsynthese

(nM/g/h)

Mevalonat Acetat

2000 100

1000 50

400 20

Kontrolle

+CP1B

Kontrolle

+CP1B

Mevalonat einbau

+CP1B

Acetateinbau

+Thyroxin

+Thyroxin +CP1B

Mevalonat einbau

+Thyroxin

+Thyroxin +CP1B

Acetateinbau

+Thyroxin

+Thyroxin +CP1B

Mevalonat einbau

Cholesterinsynthese

(nM/g/h)

2000

1000

I

II

Kontrolle

+CP1B

Mevalonat einbau

+Thyroxin

+Thyroxin +CP1B

Acetateinbau

+Thyroxin

+Thyroxin +CP1B

Mevalonat einbau

+Thyroxin

+Thyroxin +CP1B

Mevalonat einbau

Abbildung 2 : Acetat- bzw. Mevalonat einbau in Rattenleberschnitte (nM/g/h). Einfluß von CP1B, auf die Cholesterinsynthese I bei normalen Ratten

II bei Ratten nach 10tägiger intraperitonealer Injektion von DL-Thyroxin (1µg/g/die)

Cholesterinsynthese aus Acetat
und Mevalonat in (nM/g/h)

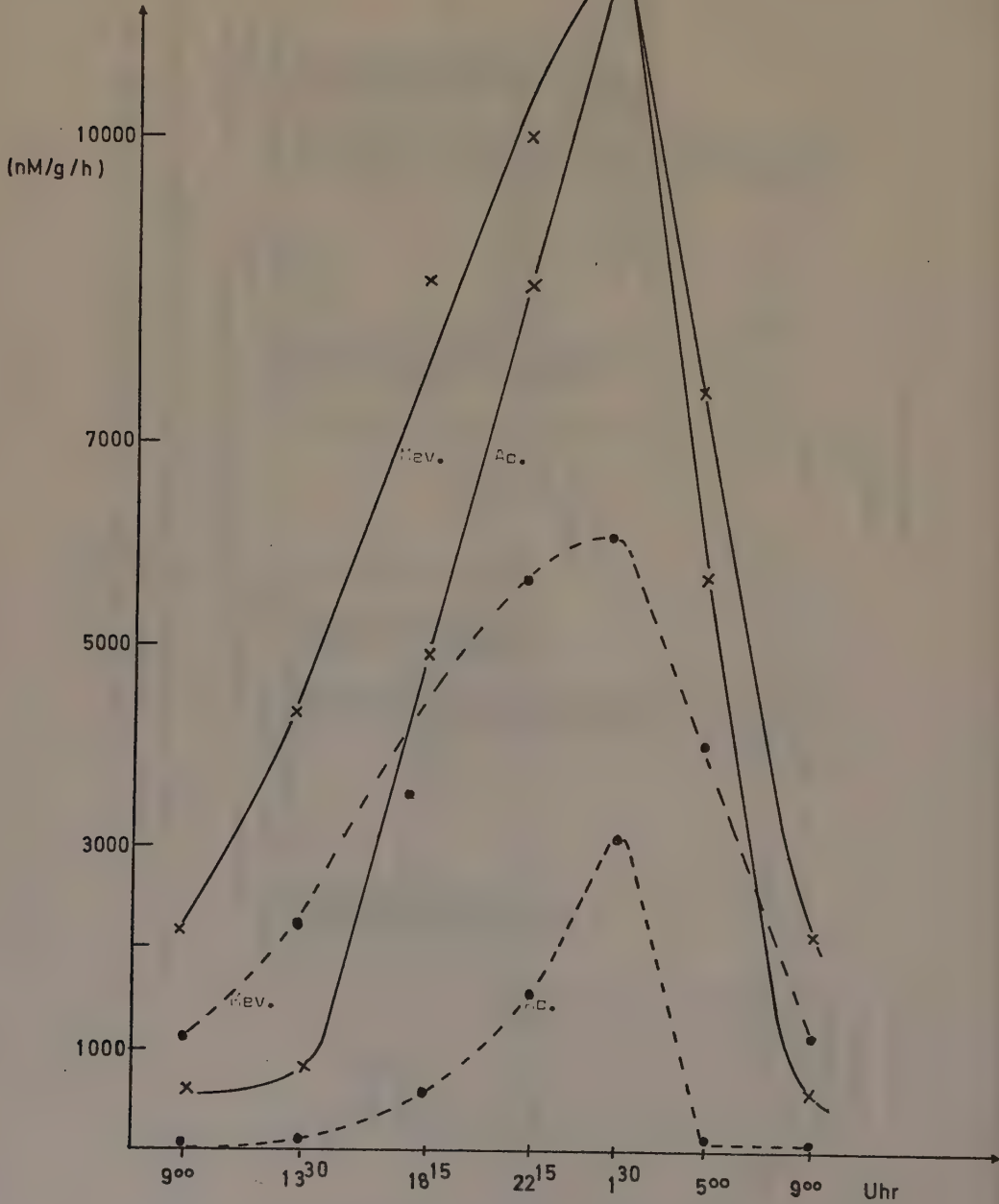


Abb. 3 : Tag-Nachtrythmus des Acetateinbaus und Mevalonateinbaus in Rattenleberschnitte bei normal (x--x) und mit CP18 (.---.) gefütterten Ratten.

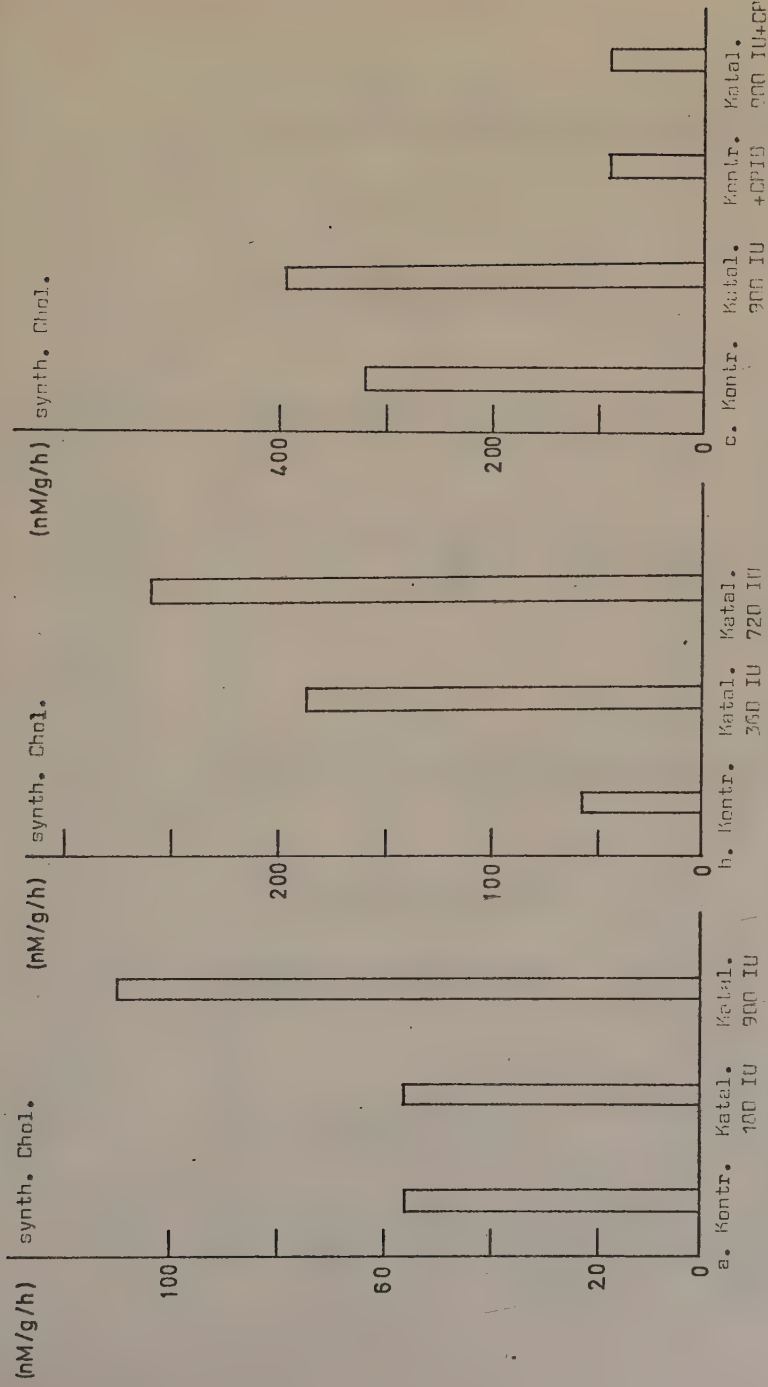


Abb. 4: Einfluß von Katalase auf den Acetateinbau in das Cholesterin der Rattenleber
 (Mittelwerte aus Triplikaten bei jeweils 2 Tieren pro Versuch).
 a. nach intraperitonealer Injektion von 100 bzw. 900 IU Katalase pro die über 5 Tage.
 b. Zugabe von Katalase zum Inkubationsmedium.
 c. Einfluß von Katalase (900 IU/die/4 Tage lang) auf den Acetateinbau bei Kontrolltieren und bei Tieren nach 23-tägiger CP13-Gabe.

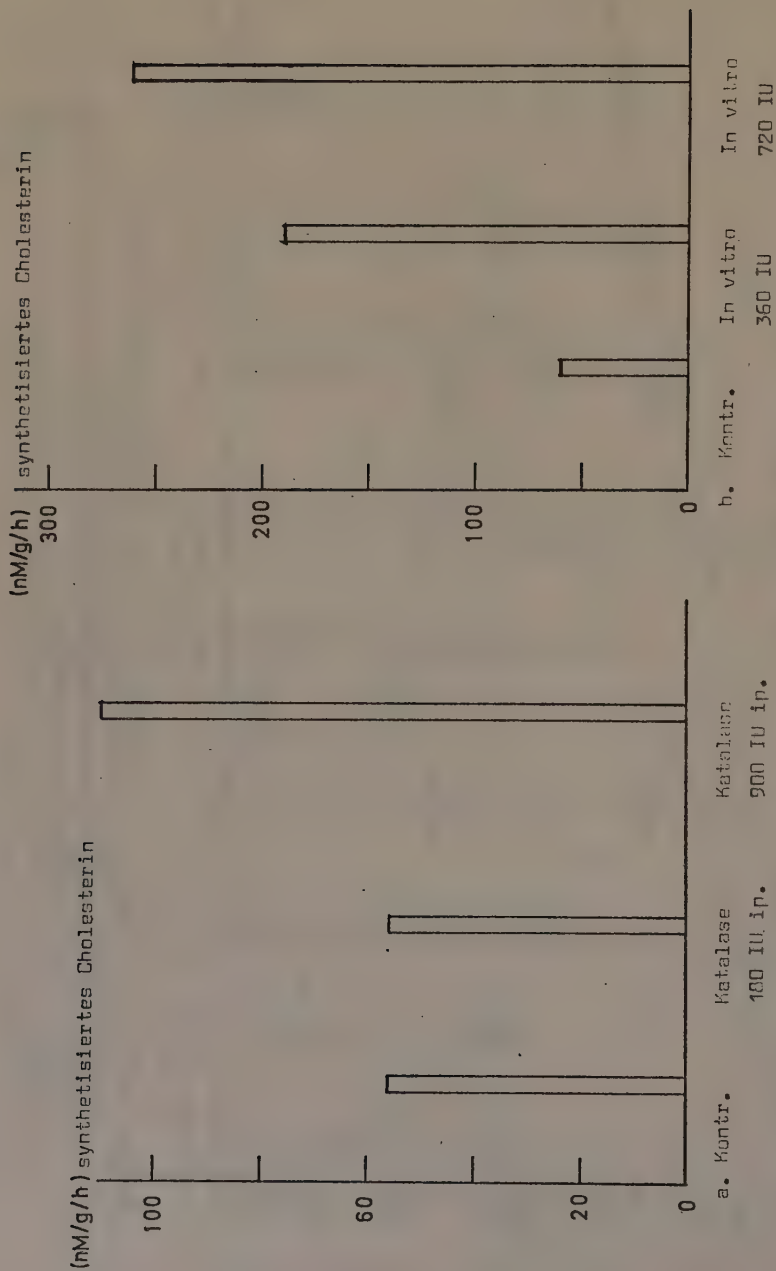
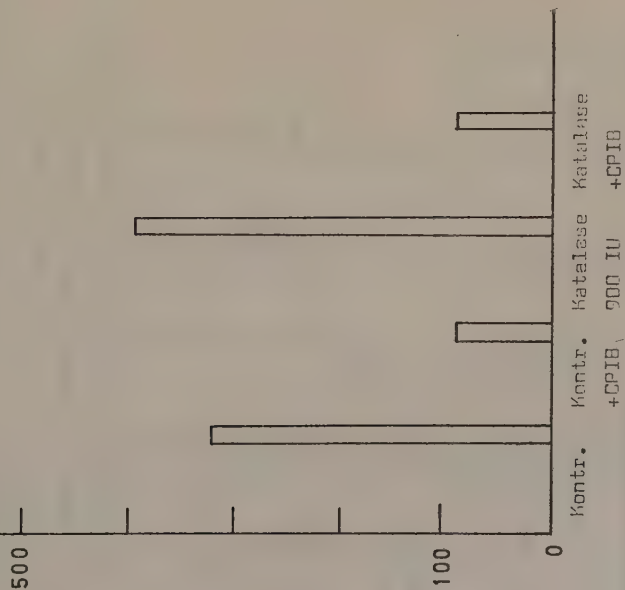


Abb. 4: Einfluß von Katalase auf den Acetateinbau in das Cholesterin der Rattenleber (Mittelwert aus Triplicaten bei jeweils 2 Tieren pro Versuch).

- a. Nach intraperitonealer Injektion von 100 bzw. 900 IU Katalase pro die über 5 Tage.
b. Zugabe von Katalase zum Inkubationsmedium.

(nM/g/h) synthetisiertes Cholesterin
aus Acetat



(nM/g/h) synthetisiertes Cholesterin
aus Mevalonat

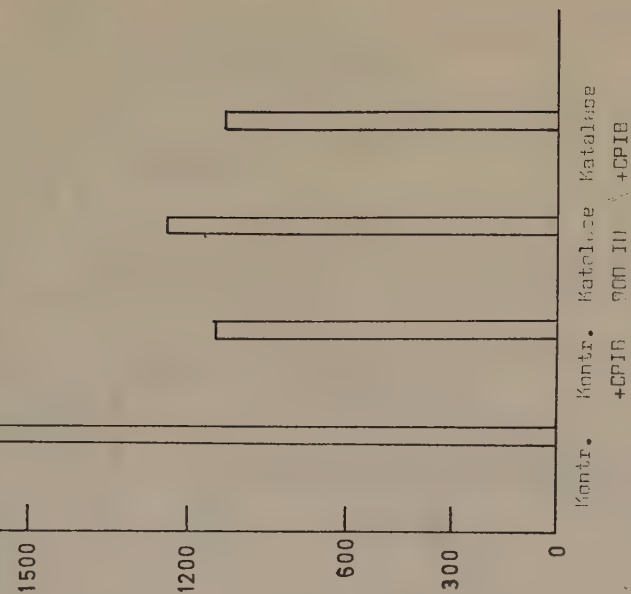


Abb 4c: Einfluß von Katalase (900 IU/die/4 Tage lang) auf den Acetat- und Mevalonatpinbau bei Kontrolltieren und bei Tieren nach 23-tägiger CPIB-Gabe.

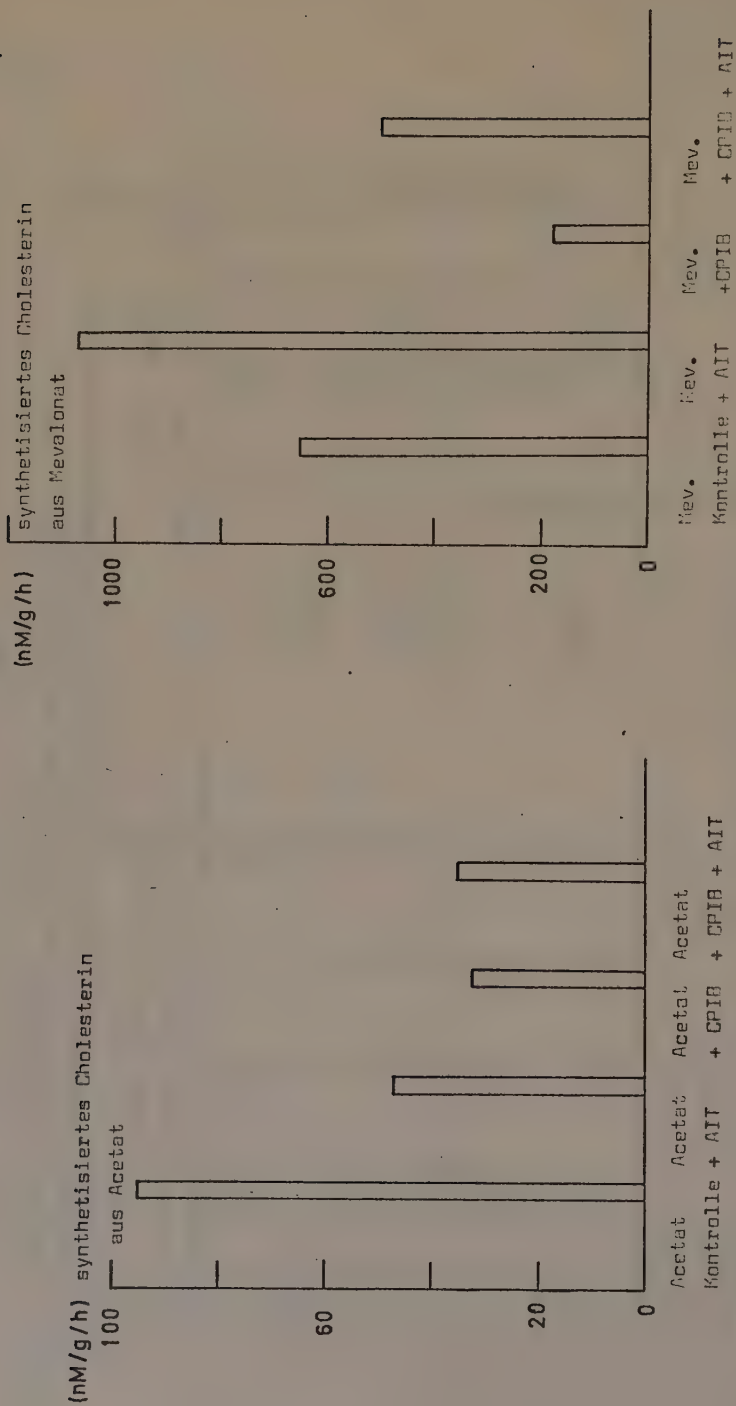


Abb. 5: Einfluß von AIT auf den Acetat- und Mevalonateinbau in Rattenleberschnitte von Kontrolltieren und Tieren die 31 Tage lang mit GPIB behandelt wurden.

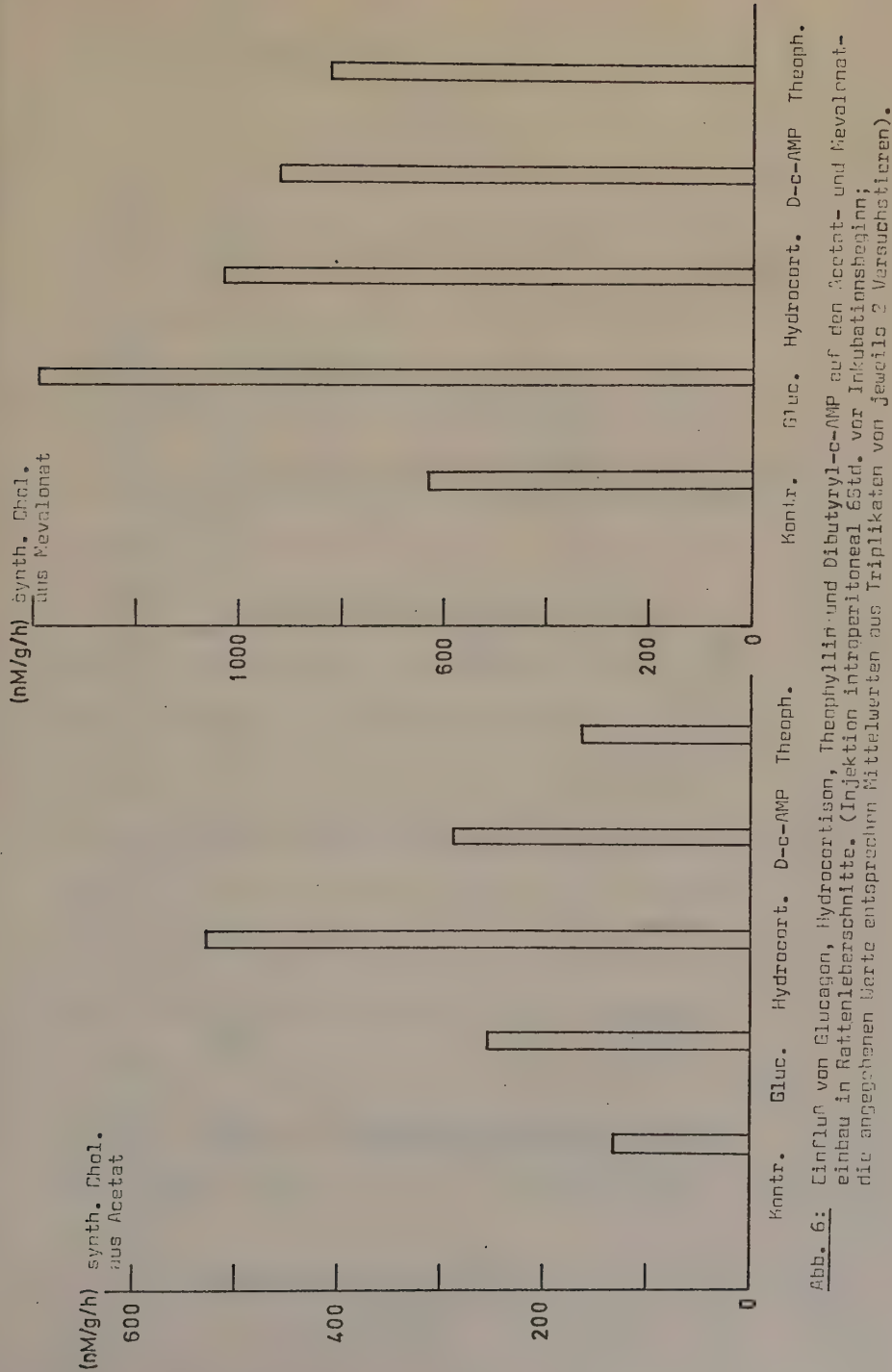


Abb. 6: Einfluß von Glucocagon, Hydrocortison, Theophyllin und Dibutyl-c-AMP auf den Acetat- und Mevalonat-einbau in Rattenleberschnitte. (Injektion intraperitoneal 6Std. vor Inkubationsbeginn; die angegebenen Werte entsprechen Mittelwerten aus Triplikaten von jeweils 2 Versuchstieren).

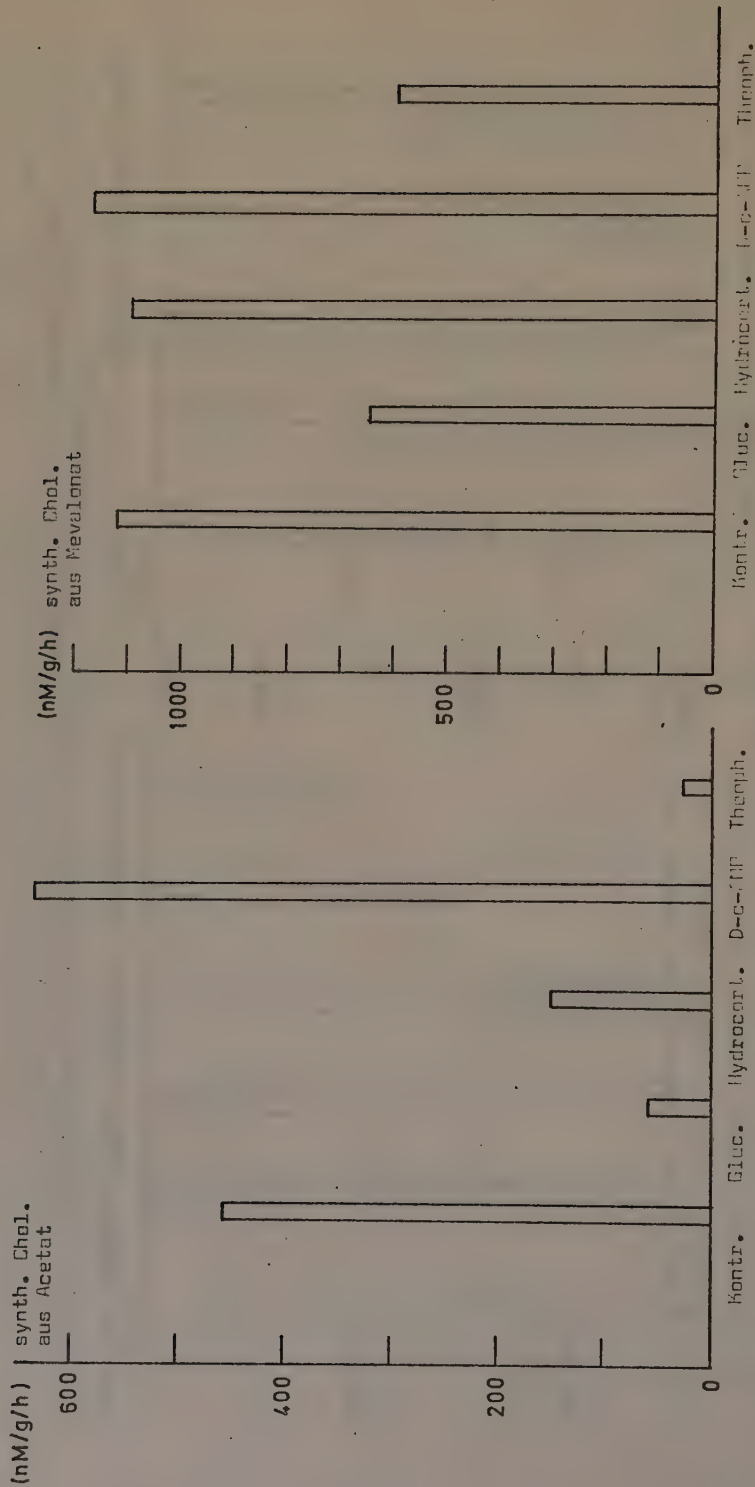


Abb. 7: Einfluß von Glucagon, Hydrocortison, Theophyllin und Dibutyryl-c-AMP auf den Acetat- und Mevalonat-einbau in Rattenleberschnitten. (Infektion intraperitoneal 3 Std. vor Inkubationsbeginn; die angegebenen Werte entsprechen Mittelwerten aus Triplicaten von jeweils 2 Versuchstieren).

LEBENS LAUF

Als Sohn des Arztes Dr. Herbert Herzum und seiner Frau Erika, wurde ich am 18. Juli 1944 in Aussig an der Elbe geboren. Durch die Vertreibung der Deutschen aus dem Sudetenland kam ich mit meinen Eltern 1946 in das Flüchtlingslager Aschaffenburg. Nach einem einjährigen Aufenthalt in Sailauf bei Aschaffenburg, konnte sich mein Vater in Amorbach/ Odw. niederlassen und eröffnete dort eine Praxis. Hier besuchte ich ab 1949 die Volksschule und trat 5 Jahre später in die sechsklassige Realschule Amorbach ein. Nachdem ich dort die mittlere Reife absolviert hatte wechselte ich 1961 in das Gymnasium mit Oberrealschule der Kreisstadt Miltenberg über und bekam im Juni 1965 mein Abiturzeugnis. Im Wintersemester 1965/66 nahm ich das Studium der Tiermedizin in München auf, da ich an der Medizinischen Fakultät keine Zulassung bekommen hatte. Im Wintersemester 1966/67 bestand ich die tierärztliche Vorprüfung mit der Gesamtnote 2. Die Zulassung zum Studium an der Medizinischen Fakultät bekam ich zum Wintersemester 1968/69, nachdem ich im Sommersemester 1968 das Veterinärmedizinische Physikum erfolgreich abgeschlossen hatte. Die ärztliche Vorprüfung beendete ich im Sommerhalbjahr 1969 in München mit der Gesamtnote 2. Nach sechs Semestern klinischem Studium begann ich im Oktober 1972 mit der ärztlichen Prüfung.

Am 20. Februar 1973 schloß ich dann das medizinische Staats-
examen mit der Gesamtnote 2 ab. Vom 1. März 1973 bis zum
31. Oktober 1973 war ich an der Medizinischen Poliklinik
der Universität in ambulantem und stationärem Dienst tätig.
In dieser Zeit beendete ich auch den experimentellen Teil
meiner Promotionsarbeit. Am 12. November 1973 setzte ich
meine Ausbildung als Medizinalassistent im Kreiskranken-
haus Erding auf der chirurgischen Abteilung fort und be-
endete diese am 30. April 1974.

